BAHAN AJAR
MIKROBIOLOGI

Endah Retnaningrum
Sari Darmasiwi
Abdulrahman Siregar

Gadjah Mada University Press

BAHAN AJAR
MIKROBIOLOGI

Endah Retnaningrum

Sari Darmasiwi

Abdul Rahman Siregar

BAHAN AJAR MIKROBIOLOGI

Penulis:
Endah Retnaningrum
Sari Darmasiwi
Abdul Rahman Siregar

Korektor:
Wahyu

Desain sampul:
Pram's

Tata letak isi:
Rini

Ilustrator:
Muhammad Nabil
Arief Muammar

Foto:
Hendy Eka Putra

Penerbit:
Gadjah Mada University Press
Anggota IKAPI

Ukuran: 15,5 X 23 cm; xvi + 152 hlmn
ISBN: 978-602-386-175-0
1610210-B1E

ISBN (E) : 978-602-386-451-5

Redaksi:
Jl. Grafika No. 1, Bulaksumur
Yogyakarta, 55281
Telp./Fax.: (0274) 561037
ugmpress.ugm.ac.id | gmupress@ugm.ac.id

Cetakan pertama: Desember 2017
2530.220.12.17

PENGANTAR

Bahan Ajar Mikrobiologi ini disusun untuk membantu para mahasiswa jurusan biologi pada khususnya dan pembaca pada umumnya dalam memahami konsep dasar teoretis mengenai mikrobiologi dasar, yang hingga saat ini buku ajar dan pustaka mengenai mikrobiologi dalam bahasa Indonesia masih sangat terbatas. Selain itu, buku ini dapat membantu mahasiswa untuk memahami dan mempersiapkan diri dalam perkuliahan maupun studi pustaka yang terkait. Penulis berharap bahwa buku ajar ini dapat bermanfaat bagi mahasiswa dan pembaca umum dalam meningkatkan pemahaman mengenai hakikat studi keanekaragaman dunia mikrobia sebagai pengantar dalam mempelajari cabang ilmu mikrobiologi berikutnya, baik dalam bidang mikrobiologi industri, kesehatan, lingkungan, dan lain sebagainya.

Buku ajar ini jauh dari kesempurnaan, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun bagi perbaikan buku ini. Akhir kata, penulis berharap buku ini dapat bermanfaat bagi keberhasilan mahasiswa dan pembaca secara umum dalam meningkatkan pemahaman mengenai hakikat mikrobiologi untuk menyingkap keanekaragaman hayati di alam.

Yogyakarta, 30 Maret 2016

Penyusun

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL

DAFTAR GAMBAR

PENGANTAR DAN SEJARAH PERKEMBANGAN MIKROBIOLOGI

1

Mikrobiologi merupakan ilmu yang mempelajari mikrobia yang terdiri dari mikrobia seluler dan aseluler. Mikrobia seluler terdiri dari arkhaea, bakteri, fungi, algae, dan protozoa, sedangkan mikrobia aseluler mencakup virus. Berbagai penelitian yang melibatkan kajian mikrobia memerlukan mikroskop, tetapi beberapa mikrobia seperti *bread molds* dan *filamentous algae* dapat diamati tanpa menggunakan mikroskop. Secara alamiah mikrobia selalu ditemukan di segala aspek kehidupan, sehingga untuk mengkaji mikrobia, diperlukan beberapa teknik khusus, meliputi sterilisasi, isolasi, dan pengkulturan dalam suatu medium pertumbuhan (*culture dependent*). Beberapa kelompok mikrobia lainnya, karena ketidaksesuaian kondisi untuk mendapatkan isolat mikrobia, diperlukan teknik khusus tanpa harus menumbuhkan mikrobia tersebut dalam suatu medium, yaitu dengan teknik *unculture* (*culture independent*).

1.1 PERKEMBANGAN MIKROBIOLOGI BERDASARKAN KELOMPOK MIKROBIA

Dengan adanya perkembangan ilmu pengetahuan, teknologi, problematika, dan kebutuhan manusia, ilmu mikrobiologi hingga saat ini berkembang menjadi lima cabang bidang ilmu, yaitu bakteriologi, mikologi, fikologi, protozoologi, dan virologi. Pengelompokan tersebut didasarkan atas pendekatan taksonomis yang terdiri atas lima kelompok mikrobia, masing-masing berupa kelompok bakteri, fungi, algae, protozoa, dan virus. Perkembangan mikrobiologi, selain berdasarkan pada pendekatan taksonomis, juga berkembang berdasarkan bidang terapan. Perkembangan ini melahirkan mikrobiologi terapan yang mencakup mikrobiologi industri, mikrobiologi

farmasi dan kedokteran, imunologi, epidemiologi, mikrobiologi bahan makanan, mikrobiologi pertanian, ekologi mikrobia, fisiologi mikrobia, genetika mikrobia, dan sebagainya.

1.2 PENEMUAN MIKROBIA

Mikrobiologi muncul dan berkembang dimulai dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Antonie Van Leeuwenhoek (1632–1723). Ilmuwan ini mengamati beberapa morfologi sel mikrobia dengan menggunakan mikroskop sederhana (lensa tunggal). Pada saat itu, mikrobia yang teramati dinamakan sebagai *animalculus*. Selanjutnya, ilmuwan ini melaporkan hasil penelitiannya mengenai beberapa sel mikrobia, yaitu sel fungi, protozoa, algae, dan juga sel darah, serta spermatozoa yang diterbitkan pada *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*.

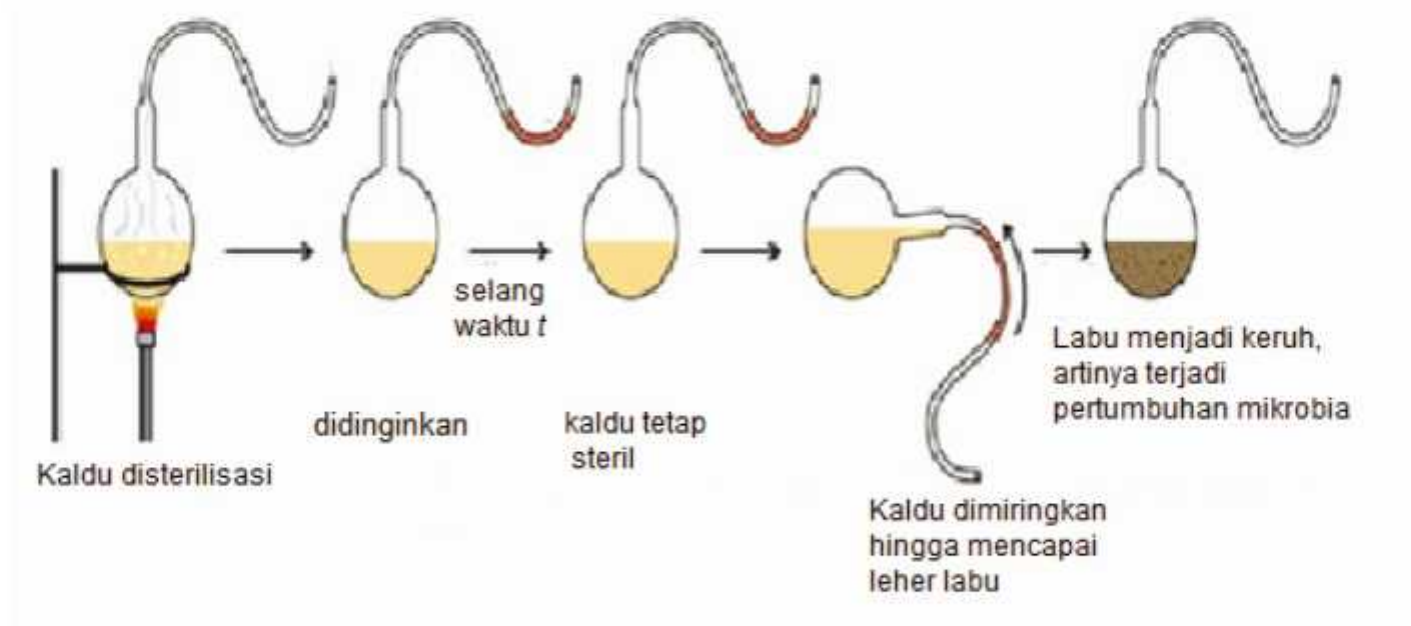
1.3 ASAL-USUL KEHIDUPAN BERDASARKAN TEORI *GENERATIO SPONTANEA*

Pada awalnya, yaitu sejak zaman Aristoteles (384–322 SM), diyakini bahwa jasad hidup dapat terjadi secara spontan dari benda tidak hidup (Teori *Generatio Spontanea*). Sesuai perkembangan ilmu pengetahuan, pada 1600-an, pendapat ini ditentang oleh beberapa ilmuwan, yaitu Francisco Redi, Loius Jablot, John Needham, dan Lazzaro Spalanzani.

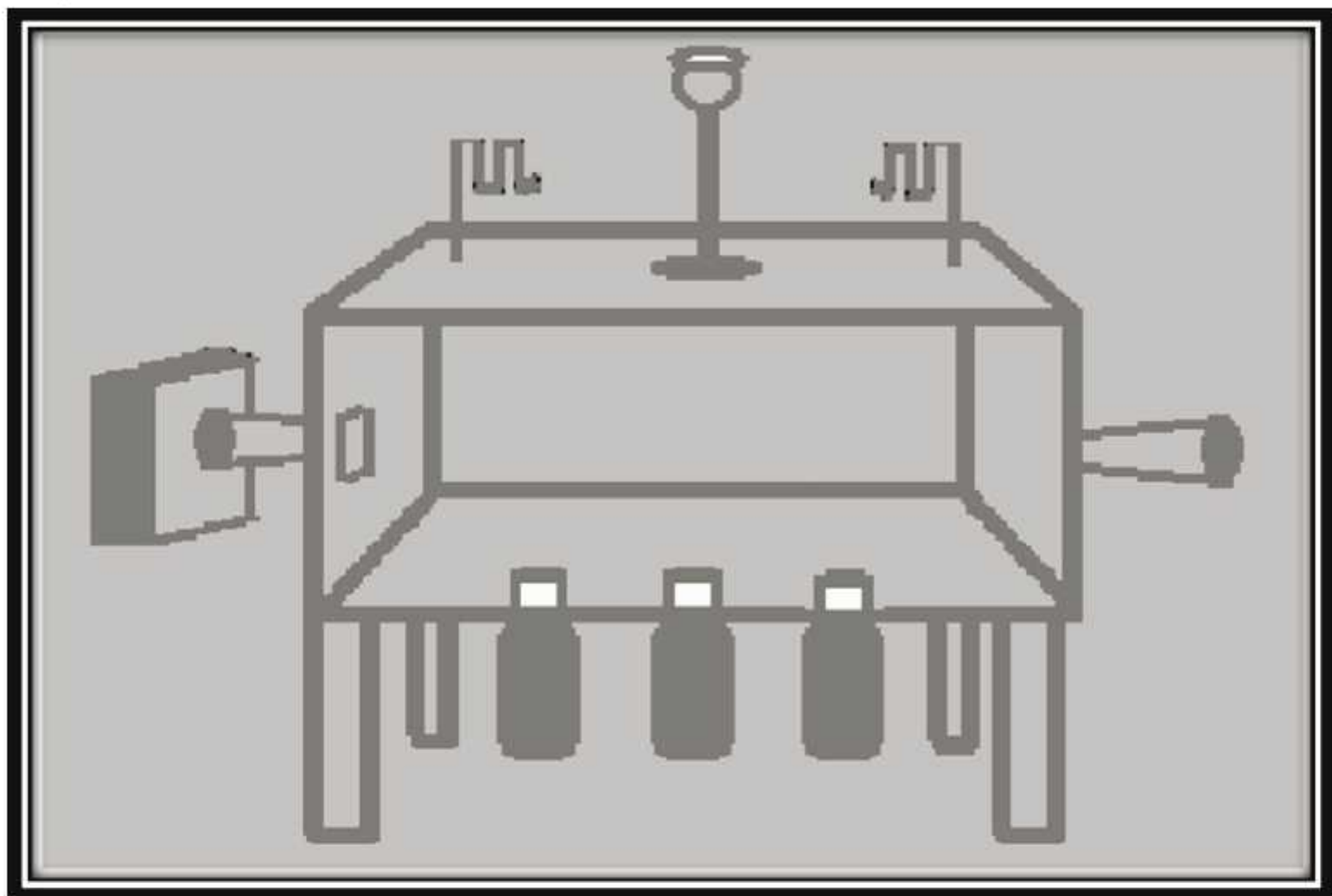
Francisco Redi, pada 1665, melakukan percobaan untuk menentang Teori *Generatio Spontanea*. Ilmuwan ini membuktikan bahwa jasad hidup tidak berasal dari daging yang membusuk, tetapi berkembang dari telur lalat yang berkembang pada daging tersebut. Pada 1670, Louis Jablot mengamati cairan infus yang telah dididihkan dan dipisahkan ke dalam dua tempat yang tertutup dan terbuka, sehingga mengalami kontak dengan udara. Hasil penelitian Louis Jablot tersebut dapat disimpulkan bahwa kehidupan muncul hanya pada cairan infus yang terbuka. Bukti lain juga ditunjukkan oleh John Needham (1713–1781) yang membuktikan bahwa air kaldu daging kambing yang telah dididihkan, lalu ditutup rapat, bila dibiarkan beberapa lama akan menjadi keruh karena pertumbuhan mikrobia. Lazzaro Spalanzani (1729–1799) melakukan percobaan dengan perebusan cairan organik yang ditutup rapat, ternyata tidak menyebabkan pertumbuhan mikrobia. Meskipun demikian, masih terdapat

penentangan dari penganut paham *Generatio Spontanea* yang beranggapan bahwa teknik perebusan yang dilakukan Lazzaro Spalanzani menyebabkan keluarnya oksigen dari sistem, serta penutupan bejana dengan rapat akan mencegah masuknya oksigen ke dalam sistem.

Beberapa percobaan untuk menentang *Generatio Spontanea* terus dilakukan, di antaranya oleh Schwann, dengan cara memanaskan udara sebelum memasukkan ke bejana. Beberapa ilmuwan lain mencoba melakukan penyaringan udara menggunakan kapas sebelum memasukkannya ke dalam bejana. Namun, semua pembuktian tersebut masih dibantah oleh penganut *Generatio Spontanea* karena teknik tersebut hanya merupakan rekayasa udara, sehingga mencegah terjadinya *Generatio Spontanea*.

Penelitian-penelitian tersebut tak terbantahkan, sehingga pada periode berikutnya, Louis Pasteur (1822–1895) melakukan percobaan yang dapat mematahkan teori *Generatio Spontanea*. Pasteur melakukan percobaan dengan merebus air kaldu pada sebuah bejana berleher angsa, sehingga udara akan tetap dapat masuk ke dalam bejana, sedangkan mikrobia yang terdapat pada udara terperangkap pada leher bejana tersebut. Air kaldu pada bejana akan tetap steril selama tidak mencapai leher bejana. Apabila air kaldu mencapai leher bejana, mikrobia yang telah terperangkap pada leher bejana tersebut kembali bercampur dengan air kaldu, sehingga mengalami kekeruhan, yang menunjukkan pertumbuhan mikrobia (Gambar 1.1).

Gambar 1.1 Percobaan Louis Pasteur untuk menentang teori *Generatio Spontanea*
Sumber: Madigan *et al.*, 2015

Pendapat Pasteur ini didukung oleh John Tyndall (1877) yang melakukan percobaan dengan menaruh cairan steril yang telah direbus ke dalam sebuah

bejana yang telah ditutup rapat ke dalam sebuah kotak kedap udara (Gambar 1.2).

Gambar 1.2 Ilustrasi percobaan John Tyndall dengan menggunakan kotak steril
Sumber: https://en.wikipedia.org/wiki/file: Tyndallssetupforbrothsinopticallypreair (dated1876).jpg, dengan modifikasi penulis

Dalam percobaan tersebut, Tyndall mencoba untuk mencegah mikrobia masuk, namun tetap memungkinkan udara masuk ke dalam kotak kayu dengan menyumbat pipa penghubung antara udara di luar kotak dengan udara di dalam kotak dengan menggunakan kapas (Gambar 1.2). Tyndall juga melapisi dinding dalam kotak kayu tersebut dengan gliserin yang diperkirakan akan menyebabkan partikel debu yang masuk ke dalam kotak kayu akan menempel pada cairan gliserin. Sementara itu, bagian dasar bejana yang berisi cairan kaldu direbus dengan air mendidih di bawahnya. Selanjutnya, Tyndall menambahkan cairan kaldu ke dalam bejana menggunakan pipet sangat panjang, yang dimasukkan melalui bagian atas kotak. Percobaan tersebut membuktikan bahwa selama udara dalam kotak bebas dari partikel debu, maka cairan dalam kaldu akan tetap steril, sedangkan apabila udara dalam kotak membawa partikel debu, mikrobia akan tumbuh dalam cairan kaldu. Meskipun demikian, pada 1876 Tyndall menemukan bakteri yang masih

dapat hidup meskipun dengan pemanasan. Ternyata bakteri yang tahan panas tersebut merupakan bakteri pembentuk spora seperti yang telah ditemukan oleh Ferdinand Cohn (1828–1898), sehingga memicu Tyndall untuk menemukan metode Tyndallisasi yang berguna dalam sterilisasi media yang mengandung bakteri tahan panas.

Percobaan Pasteur dan Tyndall tersebut berhasil mematahkan teori *Generatio Spontanea*. Percobaan tersebut memicu perkembangan ilmu mikrobiologi lebih jauh, terutama dalam mencetuskan teori yang berkaitan dengan mikrobia patogen (*germ theory of disease*).

1.4 MIKROBIA PATOGEN

Beberapa mikrobia patogen yang telah diisolasi dan diteliti dapat menyebabkan penyakit pada tumbuhan, hewan, dan manusia. Mikrobia patogen yang telah diisolasi dan ilmuwan yang melaporkannya ialah sebagai berikut.

a. Kapang penyebab penyakit tumbuhan oleh Benedict Prevost (1807).
b. Kapang penyebab penyakit ulat sutra oleh Agostino Bassi (1835).
c. Kapang penyebab penyakit kulit (*ringworm*) oleh J. Schoenlein dan David Gruby (1839).
d. Khamir penyebab penyakit kentang oleh B. Lagenbeck (1839).

Khamir penyebab penyakit kentang diidentifikasi dan dikarakterisasi oleh M.J. Berkeley (1845), serta diamati daur hidupnya oleh Anton de Barry (1853).

Pencegahan infeksi mikrobia patogen pada manusia dilakukan dengan pengembangan vaksin oleh Louis Pasteur. Beberapa vaksin yang telah dikembangkan, di antaranya ialah vaksin penyakit kulit pada babi, kolera ayam, antraks, dan yang paling terkenal ialah vaksin rabies. Pengembangan vaksin rabies tersebut dilakukan dengan menggunakan mikrobia patogen *non-virulent*. Virus rabies tersebut ditumbuhkan pada sumsum tulang belakang kering kelinci, kemudian dicobakan pada hewan uji coba. Pada akhirnya, percobaan ini berhasil dilakukan pada manusia.

Ilmuwan lain pada era yang sama dengan Louis Pasteur, yaitu Robert Koch, menemukan penggunaan potongan kentang dan gelatin sebagai media untuk menumbuhkan kultur murni mikrobia dengan teknik penggoresan. Percobaan tersebut kurang berhasil, kemudian Angelina Hesse menambahkan

agar ke dalam medium tersebut, dan ternyata berhasil mengisolasi mikrobia. Teknik ini digunakan untuk mengisolasi mikrobia hingga saat ini.

Selain itu, Koch juga berhasil membuktikan keterkaitan mikrobia patogen penyebab penyakit menular, misalnya *Bacillus anthraxis* penyebab penyakit antraks, atau *Mycobacterium tuberculosis* penyebab penyakit tuberkolosis. Koch juga mengembangkan suatu postulat. Kriteria yang digunakan dalam penentuan ini disebut Postulat Koch atau teori kuman penyebab penyakit (*Germ theory of diseases*), yang terdiri atas beberapa pernyataan sebagai berikut.

1) Agen penyebab penyakit (*etiological*) harus ada dan menyebabkan penyakit pada semua organisme yang terserang, tetapi tidak ada pada organisme sehat.
2) Agen (mikroorganisme) harus dapat diisolasi dan dikulturkan dalam kultur murni.
3) Kultur mikrobia yang dimasukkan ke dalam organisme sehat dapat menyebabkan penyakit yang sama.
4) Agen penyebab penyakit yang sama harus dapat diisolasi kembali dari organisme sakit.

Pasteur dan Koch membuat postulat bahwa penyakit menular disebabkan oleh mikrobia. Oleh karena itu, kedua orang ini dianggap sebagai pendiri teori kuman.

1.5 TEKNIK MIKROBIOLOGIS

Beberapa ilmuwan telah menemukan beberapa teknik mikrobiologi yang akan menjadi dasar pengembangan teknik mikrobiologi terkini yang diuraikan sebagai berikut.

a. Robert Koch dan Paul Ehrlich (1854–1915) mengembangkan cara pewarnaan untuk mengidentifikasi bakteri penyebab penyakit tuberulosis.
b. Angelina dan Walter Hesse (1846–1911), memperkenalkan penggunaan agar sebagai bahan pemadat media pertumbuhan bakteri yang sangat bermanfaat hingga sekarang.
c. Richard Petri (1852–1921) menciptakan cawan petri, sehingga memudahkan penumbuhan mikrobia pada media agar.

d. Christian Gram (1853–1935) mengembangkan metode pewarnaan untuk mendemonstrasikan adanya bakteri dalam jaringan hewan.
e. Louis Pasteur (1860-an) mengembangkan teori Pasteurisasi.

1.6 MIKROBIA YANG BERPERAN PADA BERBAGAI KEHIDUPAN MANUSIA

Penemuan mikrobia yang berperan pada kehidupan manusia juga telah dilakukan oleh beberapa ilmuwan.

a. Sergey Winogradsky (1856–1953) dan Martinus Beijerinck (1851–1931) mengisolasi bakteri penambat N_2 (Nitrogen), bakteri fotosintetik, serta bakteri nitrifikasi.
b. Paul Ehrlich dan von Behring (1890-an) mengembangkan antitoksin untuk difteri.
c. Ehrlich mengajukan hipotesis mengenai imunitas berdasarkan hipotesis humoral.
d. Elie Metchnikoff (1845–1916) menemukan fagositosis yang erat kaitannya dengan imunitas berdasarkan hipotesis seluler.
e. Gerhard Domagk melaporkan penggunaan sulfonamide untuk memberantas sejumlah bakteri.
f. Alexander Flemming menemukan penisilin yang berkhasiat melawan bakteri patogen.
g. Horward Florey dan Ernst Chain telah berhasil mengisolasi penisilin, sehingga membuka kemungkinan pengembangan industri antibiotika.
h. Iwanosky (1892) menemukan agen penyebab mozaik pada tembakau yang ternyata berukuran lebih kecil daripada bakteri.
i. Loeffler dan Frosch (1898) menemukan virus penyebab penyakit kuku dan mulut. Akhirnya, virus yang menyerang bakteri (bakteriofage) ditemukan oleh Twort (1915) dan d'Herelle (1917).
j. Joseph Lister (1827–1912) menemukan asam karbolat sebagai disinfektan dalam pembedahan.

1.7 BIOLOGI MOLEKULER

Perkembangan biologi molekuler diawali dengan ditemukannya DNA sebagai bahan genetik oleh Oswald Avery, Colin McLeod, dan M. McCarty

pada 1944. Griffith (1928) telah menemukan proses perpindahan materi genetik dengan cara transformasi pada bakteri *Diplococcus pnemoniae* dengan dugaan ada bahan genetik yang berpindah dari satu bakteri ke bakteri yang lain. Selanjutnya, ditemukannya DNA sebagai bahan genetik memicu penelitian mengenai struktur DNA serta mekanisme pewarisan sifat. Akhirnya, pada 1953, J. Watson dan F. Crick menerima hadiah Nobel karena penemuan model struktur dan fungsi DNA. Hal ini telah memicu revolusi biologi molekuler. Selanjutnya, pada 1960, J. Monod dan F. Jacob mengemukakan mekanisme pengendalian ekspresi gen. Peneliti berikutnya, yaitu Nirenberg, Mattei, dan Khorana, menemukan kode genetika. Mekanisme pembentukan *Adenosine Tri Phospate* (ATP) dalam sel (teori khemiosmotik) yang diajukan oleh Peter Mitchel ikut menyumbang dalam penemuan biologi sel dan molekuler. Periode berikutnya, yakni pada 1970-an sampai awal 1980-an, beberapa penelitian menghasilkan teori rekayasa genetika.

LATIHAN

1. Jelaskan bagaimana Pasteur dapat mematahkan teori abiogenesis?
2. Bagaimana cara menentukan suatu mikrobia bersifat patogen berdasarkan postulat Koch?
3. Jelaskan penemuan yang menjadi cikal bakal berkembangnya biologi molekuler!

2 METODE MIKROBIOLOGI

Penelitian mikrobia di laboratorium sangat penting dalam upaya memahami kehidupan mikrobia. Untuk itu, mikrobia harus ditumbuhkan di laboratorium dalam bentuk kultur murni. Kultur murni merupakan kumpulan sel yang berasal dari sel tunggal. Supaya diperoleh isolat mikrobia yang berupa kultur murni, diperlukan suatu metode mikrobiologi dengan menggunakan pendekatan prinsip teknik aseptis untuk mengisolasi dan mengidentifikasi mikrobia yang bebas kontaminasi. Dalam bab ini akan diuraikan konsep dasar nutrisi mikrobia, berbagai tipe medium pertumbuhan, teknik dasar isolasi mikrobia, identifikasi dan karakterisasi mikrobia, serta teknik enumerasi yang diperlukan untuk mempelajari mikrobia di laboratorium.

2.1 NUTRIEN YANG DIPERLUKAN MIKROBIA DAN KIMIA SEL MIKROBIA

Nutrien diperlukan oleh semua jasad hidup untuk melakukan seluruh proses kehidupan yang berlangsung, di antaranya untuk pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi. Nutrien merupakan sumber materi dan energi untuk biosintesis komponen sel, transpor nutrien ke dalam sel, dan motilitas. Dengan mengetahui kebutuhan nutrien mikrobia, peneliti dapat mengisolasi mikrobia dari alam, kemudian memperkirakan komposisi medium yang berisi semua nutrien yang dibutuhkan untuk menumbuhkan mikrobia di laboratorium. Dalam uraian berikut akan dibahas kebutuhan mikrobia akan makronutrien, mikronutrien, faktor pertumbuhan, dan air.